

## ¿Contienen los preparados microbiológicos para usos en hortícolas lo que indican sus etiquetas?

J.C. Tello Maquina<sup>1</sup>, F. Camacho Ferre<sup>1</sup>, D. Palmero Llamas<sup>2</sup>, M. de Cara García<sup>1</sup>, C. Ruíz Olmos<sup>1</sup>, A. Boix Ruiz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Producción Vegetal. Grupo de Investigación AGR-200. Universidad de Almería. Cañada de San Urbano s/n. 04120. Almería. España.

<sup>2</sup> Universidad Politécnica de Madrid. E.U.I.T. Agrícola. Ciudad Universitaria s/n. 28040. Madrid. España.

**Palabras clave:** biopesticidas, bioestimulantes, contenido microbiológico.

### Resumen

La homologación en los países más industrializados es un obstáculo para la comercialización de biopesticidas. Para evitar tan complejo proceso, el término bioestimulantes parece ser la denominación que los acoge con menos complicación de registro.

En esta comunicación se recoge el análisis de 9 preparados microbiológicos remitidos por empresas distribuidoras y por técnicos de cooperativas. La pregunta fue la siempre la misma: ¿contienen lo que indica la etiqueta del envase?.

Ocho de los preparados indicaban en su etiqueta un número concreto (concentración) de unidades formadoras de colonias de un hongo antagonista (materia activa) y una indicaba la concentración de un hongo endomicorrízico. Los análisis se ajustaron a los tipos de hongos prescritos en investigación para éstos.

Los resultados pusieron en evidencia que en ninguno de los casos su contenido microbiológico se ajustaba a lo indicado en la etiqueta. En la mayoría, existían otros microorganismos no expresados en la etiqueta, en igual o mayor concentración que el hongo indicado.

### INTRODUCCIÓN

La homologación en los países industrializados es un obstáculo para la comercialización de biopesticidas. El término biopesticida acoge a todos aquellos fitosanitarios no obtenidos mediante síntesis química industrial. En esa denominación incluiremos aquí a los preparados microbianos, aunque el lector pueda disentir. Pura simplificación del lenguaje, nada más. El problema para la homologación radica en que los sistemas que la hacen posible están previstos para fitosanitarios de síntesis, conformados, habitualmente por una materia activa con una composición uniforme (Regnault-Roger, 2005; Tello y Camacho, 2010). En este sentido la directiva de la Unión Europea 91/414/CEE, establece un procedimiento que es muy exigente.

Estas exigencias de homologación o registro han sido y son muy criticadas, y se han buscado vías alternativas que faciliten el proceso. Aparecen entonces los bioestimulantes, que algunos autores definen como sustancias que “modifican el metabolismo vegetal secundario de ciertas partes de las plantas, lo que les permite resistir, bien al estrés abiótico y al parasitismo de algunos bio-agresores; o, bien, modifican el metabolismo de los microorganismos del suelo, induciéndolos a producir metabolitos particulares que favorecen la nutrición mineral de las plantas”. La definición engloba, a la vez, elicitores y fertilizantes (bioestimulantes y biofertilizantes).

Este enfoque particular parece dispensar a preparados microbiológicos de su homologación como productos fitosanitarios.

El propósito de esta comunicación es presentar el análisis microbiológico de productos comerciales compuestos por microorganismos. El trabajo realizado se inició en 2008 y finalizó en 2011. Las muestras analizadas fueron entregadas al laboratorio por empresas de distribución de productos agrícolas y técnicos de cooperativas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los análisis para los preparados con microorganismos fueron realizados utilizando la técnica de suspensiones sucesivas (Tello et al., 1991). Los análisis para evaluar la presencia de micorrizas vesículo-arbusculares (MVA), dado que dichos hongos son biotrofos, se hicieron cultivando sobre las muestras a distintas concentraciones de estas plantas de sorgo, puerros y cebollas. Los ensayos se mantuvieron durante 90 días en condiciones ambientales controladas (invernadero y cámaras climatizadas). Al final del ensayo se arrancaron las plantas, se tiñeron las raíces y se hicieron las observaciones microscópicas asociadas. Se analizaron 10 preparados comerciales diferentes.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se resumen los resultados que se han organizado en 3 columnas. La primera, con el código del registro en el laboratorio; la segunda con las precisiones de la etiqueta; y la tercera con los resultados analíticos.

Los resultados merecen algunos comentarios. De manera general, en las etiquetas no se indica el modo de aplicación y los patógenos para los que se recomienda. Hay que exceptuar el producto 08/50 que da precisiones para su uso y el 08/38-1 que indica para que insectos-plaga se recomienda. Otro aspecto a resaltar es la ausencia de dosis de utilización (exceptuar el formulado codificado como 08/50). Dos de ellos presentaron actividad diferente del “ingrediente activo”. Uno como bioestimulante radicular (08/50) y otro como inductor de resistencia en las plantas y, además, abono CEE (08/18).

En lo que si hay una coincidencia mayor es en especificar el número de unidades formadoras de colonias (UFC) del “ingrediente activo”. Seis así lo hacen. Este aspecto será comentado más adelante.

Si nos atenemos a los análisis microbiológicos realizados en nuestro laboratorio y se comparan con lo que se declara en las etiquetas, algunas reflexiones parecen necesarias:

Los productos 08/38-1 y 08/38-2 no permitieron aislar el hongo *Metarhizium anisopliae*. Por el contrario, presentaron altas concentraciones de *Trichoderma* ( $10^5$  UFC·g<sup>-1</sup>). Es difícil asimilar una contaminación con tan elevada presencia del hongo no indicado en la etiqueta. No tenemos información sobre el parasitismo de *Trichoderma* en trips.

El preparado 08/20, sólo permitió el aislamiento de tres de los 10 componentes del “ingrediente activo”.

Cuatro de las formulaciones que presentaban en la etiqueta a *Trichoderma* como único componente (08/19, 08/50, 08/52, 08/65), presentaron otros hongos. Algunos con una presencia tan elevada como el protagonista de la formulación. Así, en los códigos 08/65, 08/52, 08/50, la presencia de *Paecilomyces* sp y *Rhizopus* sp, fue tan elevada como la de *Trichoderma*. ¿Cabría plantearse aquí una contaminación durante el proceso de fabricación? ¿La hubo en el inóculo original?



La concentraciones de *Trichoderma* han sido siempre menores en los análisis practicados que en las indicaciones cuando las hubo, precisadas en la etiqueta. Podría esgrimirse como justificación que las técnicas analíticas empleadas han sido diferentes. También podría argumentarse que han sido el transporte y/o la conservación los factores que han influido. Sólo en uno de los preparados (08/51) se precisa, vagamente, la conservación bajo refrigeración. Alguna anotación parece pertinente. En la bibliografía especializada se recomiendan para *Trichoderma harzianum* preparados con  $10^8 - 10^9$  UFC  $\cdot$  ml $^{-1}$  (Moyano Cárdena, 2001; García Ruíz et al., 2009).

Una de las deficiencias más importantes desde nuestro punto de vista, en el etiquetado de los preparados comerciales es la ausencia de indicaciones sobre su uso. Es decir, al menos, debería indicarse para que enfermedad se recomienda. Tomando como ejemplo a *Trichoderma*, hay que señalar que se ha recomendado para el control de micosis de la parte aérea (podredumbre gris, *Botrytis cinerea*) y para enfermedades del suelo (diversas formas especializadas de *Fusarium oxysporum*, podredumbre causada por *Rhizoctonia solani*, entre otras).

En el Tabla 2, se resumen los resultados del preparado comercial a base de MVA *Glomus* sp. y es evidente que en nuestros análisis no detectamos la presencia del hongo micorrízico en ningún caso.

Podría argumentarse que el número de muestras analizadas no es elevado. Es cierto, pero esto no ha sido un trabajo dirigido de investigación, ha respondido a consultas concretas. Ha sido un servicio realizado mediante técnicas de investigación. Sin embargo, siendo reducido el número de preparados microbiológicos, los resultados son, cuando menos, llamativos. Prácticamente, ninguno de los preparados contenía lo que indicaban sus etiquetas. De esta manera, ante una muestra tan pequeña, los resultados pueden tener una significación no desdeñable.

## Referencias

- Regnault-Roger, C. 2005. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. 2005. Ed: Lavoisier. Paris.
- García Ruíz, A., Tello Marquina, J.C., Avilés Guerrero, M. y Ordovás Ascaso, J. 2009. Fusariosis del clavel. Ediciones Agrotécnicas S.L. Madrid. 270 pp.
- Moyano Cárdena, C. 2001. Epidemiología y control de *Botrytis cinerea* en invernaderos de Almería. Tesis doctoral. E.T.S.I. Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. 180 pp.
- Tello, J., Varés, F. y Lacasa, A. 1991. Pruebas de patogeneicidad. In: Manual de laboratorio. Diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos. Ed. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid. 485 pp.
- Tello Marquina, J.C. y Camacho Ferre, F. 2010. Organismos para el control de patógenos en los cultivos protegidos. Prácticas culturales para una agricultura sostenible. 2010. Ed: Fundación Cajamar. Almería.

**Tabla 1. Resultados analíticos de preparados comerciales a base de microorganismos.**

Código de análisis	Composición microbiana según etiqueta del producto y otras informaciones	Composición microbiana según análisis
08/18	Inductor microbiano de resistencia. Abono CEE. Enriquecido con extracto de <i>Trichoderma</i>	<i>Trichoderma</i> sp ( $16 \cdot 10^7$ UFC·g <sup>-1</sup> )
08/19	<i>Trichoderma harzianum</i> ; $1 \cdot 10^9$ esporas·ml <sup>-1</sup>	<i>Trichoderma</i> sp ( $2 \cdot 10^7$ UFC·ml <sup>-1</sup> ) <i>Acremonium</i> sp ( $1 \cdot 10^3$ UFC·ml <sup>-1</sup> ) Bacteria sp ( $1 \cdot 10^3$ UFC·ml <sup>-1</sup> )
08/20	Preparado con diferentes hongos basidiomicetos ( <i>Pleurotus</i> , <i>Lentinus</i> , <i>Coriolus tamentes</i> ). Hongos microscópicos ( <i>Aspergillus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Trichoderma</i> , <i>Trichotecium</i> ). Bacterias ( <i>Genus</i> , <i>Rodococcus</i> )	<i>Trichoderma</i> sp ( $2 \cdot 10^2$ UFC·ml <sup>-1</sup> ) <i>Acremonium</i> sp ( $0,4 \cdot 10^2$ UFC·ml <sup>-1</sup> ) Bacteria sp ( $1 \cdot 10^2$ UFC·ml <sup>-1</sup> )
08/38-1	Producto biológico a base de <i>Metarhizium anisopliae</i> . Garantiza $10^{10}$ conidias totales viables por kg de formulado. Permite el control de insectos que pertenecen al orden Tisanópteros (Tripidos), dañinos para las plantas cultivadas	<i>Trichoderma</i> sp ( $4 \cdot 10^5$ UFC·g <sup>-1</sup> )
08/38-2	Producto biológico a base de <i>Metarhizium anisopliae</i> . Garantiza $10^{10}$ conidias totales viables por kg de formulado. Permite el control de insectos que pertenecen al orden Tisanópteros (Tripidos), dañinos para las plantas cultivadas	<i>Trichoderma</i> sp ( $14 \cdot 10^5$ UFC·g <sup>-1</sup> )
08/50	Bioestimulante radicular. Ingrediente activo: <i>Trichoderma viridae</i> (50 %) y <i>Trichoderma harzinum</i> (50 %). Concentración $1 \cdot 10^{12}$ conidias viables. Dosis: 400 g/Ha, aplicación vía riego. Antes de aplicar humedecer bien el suelo	<i>Trichoderma</i> sp ( $1,4 \cdot 10^7$ UFC·g <sup>-1</sup> ) <i>Paecilomyces</i> sp ( $1,1 \cdot 10^7$ UFC·g <sup>-1</sup> )
08/51	Muestra para uso experimental. Almacenar refrigerado. Manténganse fuera del alcance de los niños. Manténganse lejos alimentos, bebidas y piensos	<i>Paecilomyces</i> sp ( $53 \cdot 10^7$ UFC·g <sup>-1</sup> ) <i>Trichoderma</i> sp ( $0,3 \cdot 10^7$ UFC·g <sup>-1</sup> ) <i>Rhizopus</i> sp ( $0,1 \cdot 10^7$ UFC·g <sup>-1</sup> ) <i>Trichoderma</i> sp ( $5 \cdot 10^7$ UFC·g <sup>-1</sup> )
08/52	<i>Trichoderma harzianum</i> ; WP Min. $10^8$ UFC/g	<i>Paecilomyces</i> sp ( $1,1 \cdot 10^7$ UFC·g <sup>-1</sup> ) <i>Rhizopus</i> sp ( $0,1 \cdot 10^7$ UFC·g <sup>-1</sup> )
08/65	Ingrediente activo: <i>Trichoderma harzinum</i> (50 %) y <i>Trichoderma viridae</i> (50 %). Concentración $1 \cdot 10^{12}$ conidias viables por 400 g. Características: protege de forma natural las raíces de las plantas, ayuda al enraizamiento, a la vez que compete con los hongos patógenos que afectan a los cultivos	<i>Trichoderma</i> sp ( $0,9 \cdot 10^8$ UFC·g <sup>-1</sup> ) <i>Aspergillus</i> sp ( $0,1 \cdot 10^8$ UFC·g <sup>-1</sup> ) <i>Rhizopus</i> sp ( $0,2 \cdot 10^8$ UFC·g <sup>-1</sup> )

Nota: los datos contenidos en la segunda columna son transcripciones de las etiquetas.

Tabla 2. Resultados analíticos de un preparado comercial a base de un hongo micorrízico.

Código de análisis	Composición microbiana según etiqueta del producto y otras informaciones	Composición microbiana según análisis		
		Sorgo	Cebolla	puerro
11/4	<p>Inoculante micorrízico a base de <i>Glomus</i> sp. 1,2 · 10<sup>4</sup> NMP en 100 ml de sustrato. Se puede utilizar en todo tipo de cultivos excepto en Brassicaceas, Urticaceas y Polygonaceas.</p> <p>Dosis y modo de empleo: En la producción en viveros de plantas de cítricos y frutales mediante la aplicación localizada debajo de las semillas (5g de producto por bolsa). En todos los cultivos de hortalizas tanto al aire libre como en invernadero aplicar 3-5 kg/ha. En los cereales, en plantaciones de cítricos, frutales y olivar (10 kg·ha<sup>-1</sup>). En plantaciones de almendro y olivar en secano (100 g por árbol). En platanera 100g por plantón.</p> <p>Advertencias: El usuario será responsable de los daños causados por inobservancia total o parcial de las instrucciones de la etiqueta. Fecha fabricación setiembre 2007</p>	--	--	--

-- = no detectada presencia de *Glomus* en al menos, las raíces de 10 plantas)